不同品种毛茶水浸出物成分及抗氧化、降血糖活性研究

霍华珍[1]， 蔡爱华[1*]，郭春雨[2]，谢运昌[1]，李典鹏[1]

（1. 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所，广西植物功能物质与资源持续利用重点实验室，广西 桂林 541006；2. 广西壮族自治区茶叶科学研究所，广西 桂林 541004）

摘要：比较 7 个不同品种毛茶水浸出物活性成分及体外抗氧化与降血糖活性的差异，确定各成分与活性之间的相关性，为开发抗氧化、降血糖活性更好的六堡茶产品在毛茶原料筛选和加工方式选择方面提供科学依据。测定毛茶水浸出物及其浸膏中总多酚、总黄酮、茶多糖的含量，以 DPPH·清除能力、ORAC 值和α -葡萄糖苷酶、α -淀粉酶抑制作用为指标评价毛茶水浸出物的抗氧化和降血糖活性，Pearson 进行相关性分析。结果表明：（1）7 个品种水浸出物、总多酚、总黄酮、茶多糖含量存在显著差异，含量最高的分别为黄金茶（53.42%± 0.14%）、桂红 4 号（40.87%±1.09%）、云南大叶种（27.17%±0.26%）、福云 6 号（2.70%±0.02%）。（2）对 DPPH·清除能力、ORAC 值也存在显著差异，在两种评价方法中均显示较好抗氧化效果的品种为六堡群体种、桂红 4 号、宛田种。（3）对α-葡萄糖苷酶、α -淀粉酶的抑制作用均显著强于阳性对照阿卡波糖，在两种评价方法中均显示较好降血糖效果的品种为六堡群体种、桂红 4 号、桂青种。（4）抗氧化、降血糖活性均与总多酚、总黄酮含量有较强正相关。综上，六堡群体种、桂红 4 号、宛田种、桂青种的毛茶品质均较好，其中六堡群体种、桂红 4 号同时具有开发抗氧化、降血糖功能食品的前景，宛田种、桂青种分别具有开发抗氧化、降血糖功能食品的潜力；总多酚、总黄酮对毛茶体外抗氧化、降血糖活性的贡献较大，在毛茶进一步的加工利用过程应着重注意对这类成分的保护。

关键词：不同品种，毛茶，水浸出物成分，抗氧化活性，降血糖活性

中图分类号：Q946　　　　**文献标识码：**A　　　　**文章编号：**

Study on components, antioxidant and hypoglycemic activities of water extracts from different varieties of raw tea

HUO Huazhen[1], CAI Aihua[1*], GUO Chunyu[2], XIE Yunchang[1], LI Dianpeng[1]

（1. *Guangxi Key Laboratory of Plant Functional Phytochemicals and Sustainable Utilization, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences*, Guilin 541006, Guangxi, China; Guangxi Tea Research Institute, Guilin 541004,

基金项目： 广西科技重大专项（桂科 AA20302018-10）；广西植物功能物质与资源持续利用重点实验室主任基金（ZRJJ2022-7，ZRJJ2020-3，ZRJJ2018-2）；广西植物研究所基本科研业务费（桂植业 21004，桂植业 22001）；广西科学院基本科研业务费项目（CQZ-C-1901）；桂林市创新平台和人才计划（20210102-3）。[Supported by Science and Technology Major Project of Guangxi (GuikeAA20302018-10); Director Fund of Guangxi Key Laboratory of Plant Functional Phytochemicals and Sustainable Utilization(ZRJJ2022-7, ZRJJ2020-3, ZRJJ2018-2); Fundamental Scientific Research Funds of Guangxi Institute of Botany (Guizhiye 21004, Guizhiye 22001); Basic Research Fund of Guangxi Academy of Sciences(CQZ-C-1901); Guilin Innovation platform and talent plan(20210102-3)]。

第一作者：霍华珍(1993 -)，硕士，助理研究员，研究方向为植物资源开发与利用，(E-mail) hhz5951@foxmail.com。

***通信作者：**蔡爱华，副研究员，研究方向为植物资源开发与利用，（E-mail）356542930@qq.com。

Guangxi, China)

Abstract: To compare the differences in the active components, the antioxidant and hypoglycemic activities in vitro between seven different varieties of raw tea water extracts, determine the correlation between each ingredient and activity, and provide a scientific basis for the development of Liupao tea products with better antioxidant and hypoglycemic activities in the selection of raw materials and processing methods of raw tea. The contents of total polyphenols, total flavonoids and tea polysaccharides in the water extracts of raw tea and its infusion were determined. The antioxidant and hypoglycemic activities of raw tea water extracts were evaluated by DPPH· scavenging ability, ORAC value and α-glucosidase and α-amylase inhibition as indicators, and Pearson correlation analysis was performed. The results were as follows: (1) there were significant differences in the contents of water extract, total polyphenols, total flavonoids and tea polysaccharides among the seven varieties, while the highest contents were found in Golden tea (53.42%±0.14%), Guihong No.4 (40.87%±1.09%), Yunnan big leaf species (27.17%±0.26%) and Fuyun No.6 (2.70%±0.02%), respectively. (2)There were also significant differences in DPPH· scavenging ability and ORAC values among the seven varieties, while the varieties showing better antioxidant effects in both evaluation methods were the Liupao group species, Guihong No.4 and Wantian species. (3)The inhibition of α-glucosidase and α-amylase by the water extracts of seven varieties was significantly stronger than those of acarbose positive control.. The varieties showing better hypoglycemic effects in both evaluation methods were Liupao group species, Guihong No.4 and Guiqing species. (4)The antioxidant and hypoglycemic activities were all strongly and positively correlated with the contents of total polyphenols and flavonoids. In summary, raw tea quality of Liupao group species, Guihong No.4, Wantian species and Guiqing species are better, among which Liupao group species and Guihong No.4 have the prospect of developing antioxidant and hypoglycemic functional food; Wantian species and Guiqing species have the potential of developing antioxidant and hypoglycemic functional food respectively. Total polyphenols and total flavonoids have a great contribution to the in vitro antioxidant and hypoglycemic activities of raw tea, so that attention should be paid to the protection of such components during the further processing and utilization of raw tea.

Key words: different varieties, raw tea, the water extract components, antioxidant activity, hypoglycemic activity

六堡茶为广西特有的传统名茶，属于黑茶类，不仅具有丰富的功能成分和良好的保健功效，而且给人“红、浓、陈、醇”的感官体验，越来越受到消费者青睐（黄敏周等，2020；马婉君等，2020），已成为广西壮族自治区重点支持发展“千亿元茶产业”中的重要组团（李欣鞠，2019；孔妮，2020）。六堡茶是以鲜茶叶为原料，经初制工艺制成毛茶，在此基础上再进一步精制陈化(渥堆发酵）而成，因此六堡茶生产过程中间原料毛茶的品质优劣对六堡茶品质的形成至关重要（马婉君等，2020）。然而通过前期市场调研发现，制作六堡茶所采用的毛茶来源于较多的茶树品种，且原料质量不一，导致生产的六堡茶成品茶质量参差不齐，严重阻碍了六堡茶产业的发展，迫切需要评价这些茶树品种之间的毛茶品质差异，有利于六堡茶生产企业更为准确地选择毛茶中间原料从而进一步稳定成品六堡茶的品质。

随着人们生活水平的提高和饮食方式的改变，糖尿病的患病率日益增长且有年轻化趋势（杨玉洁等，2021）。抗氧化剂是能捕获并中和自由基，从而保护人体免受自由基损害的一类物质（张泽生等，2017），能增强机体的抗氧化能力，是预防和治疗糖尿病及其并发症的常用物质。随着生活中诱发自由基产生的辐射增多以及人类对健康越来越重视，抗氧化剂已成为食品以及医学领域研究的热点，而目前常用的抗氧化剂多为西药，有较多毒副作用，且不能有效地控制并发症（龚艳振等，2012）。人们更青睐可长期食用、毒副作用小的天然抗氧化剂。选择茶产品时，除了注重口感外，人们也会更多关注它在抗氧化、降血糖方面的保健功效。因此开发抗氧化、降血糖活性更好的六堡茶产品具有广阔的市场前景。

茶多酚（黄烷醇类、黄酮类、花青素、酚酸）、茶多糖是茶叶中重要的活性成分，不仅具有抗氧化、降血糖、护肝等保健功效，而且可以调节茶汤的口感，是决定茶叶品质的关键性物质基础（刘小玲等，2012；宋林珍等，2018；马婉君等，2020；刘淑文等，2022）。茶叶中的活性成分通常是通过煮茶或泡茶的方式被人体吸收利用，其茶汤中浸出物含量的多少反映出茶汤的厚薄、滋味的强弱程度，在一定程度上也可反映其品质的优劣（刘小玲等，2012）。因此，测定毛茶水浸出物含量及水浸出物中活性成分的含量对毛茶的品质研究具有重要意义。

尽管已有较多六堡茶相关方面的研究报道，但主要集中于六堡茶成品茶活性成分（陈小强等，2008；林小珊等，2019；张均伟等，2019）、香气成分（温立香等，2021）、加工工艺（黎敏等，2021）和生物活性（叶颖等，2019；龚受基等，2020）等方面，而对六堡茶中间原料毛茶的相关研究较少。周伟勤等（2013）对不同季节的六堡茶原料茶树品种（六堡群体种、桂青种、云南大叶种）鲜叶中的茶多酚、水浸出物、儿茶素含量进行了测定并对其毛茶进行感官（外形、汤色、香气、滋味、叶底）评价，结果表明六堡群体种更适制六堡茶，然而该文献并未涉及毛茶中活性成分的比较分析，且采用的茶树品种也较少。林国轩等(2012)报道了 9 个品种不同季节茶鲜叶的活性及营养成分含量，研究表明茶多酚含量高的茶树品种适制六堡茶，虽然该文献采用的茶树品种较多，但也未涉及毛茶中活性成分的比较分析。刘小玲等（2012）对 7 种六堡茶及单一产地（柳州）六堡毛茶制备的水浸出物、总多酚、总黄酮、总游离氨基酸等含量进行了测定，结果表明毛茶水浸出物含量、总多酚、总黄酮含量均比六堡茶成品茶高，但该文献所用毛茶的茶树品种不详也未涉及不同茶树品种之间活性成分的比较分析。黄敏周等（2020）对不同干燥工艺的毛茶品质进行感官评价，结果表明最佳的工艺为萎凋棚晒 4 h 辅助鼓风工艺。由此可见，已有关于毛茶的研究侧重于感官品质和生化成分的含量水平方面。然而从其保健价值角度来看，缺少对不同品种毛茶的活性成分及其抗氧化、降血糖活性比较的研究，因而无法科学判断不同品种毛茶的保健价值及成分和活性之间的相关性。七分靠原料，三分靠工艺，可见毛茶原料抗氧化、降血糖活性与六堡茶产品保健价值也有密切关系。

因此，本研究选取制作六堡茶常用的主要茶树品种（六堡群体种、桂青种、宛田种、云南大叶种）以及桂红 4 号、黄金茶、福云 6 号茶树品种制备的毛茶为对象，测定毛茶水浸出物及其浸膏中活性成分的含量和体外抗氧化、降血糖活性，Pearson 进行相关性分析，确定

各成分与活性之间的相关性，从活性成分含量以及体外抗氧化、降血糖活性三个方面综合考虑，优选出品质较好的毛茶原料品种，为开发抗氧化、降血糖活性更好的六堡茶产品在毛茶原料筛选和加工方式选择方面提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鲜茶叶来源于 7 个树龄为 6 年的茶树品种，于 2021 年 4 月采自广西壮族自治区茶叶科学研究所茶园，并统一按一芽三叶标准进行采摘，茶树品种分别为黄金茶（L1）、六堡群体种（L2）、桂红 4 号（L3）、福云 6 号（L4）、宛田种（L5）、云南大叶种（L6）、桂青种（L7）。

芦丁（纯度≥98%，合肥博美生物科技有限责任公司），没食子酸、水溶性维生素E(Trolox）、维生素 C（VC）（纯度≥98%，上海士锋生物科技有限公司），α-葡萄糖苷酶、α-淀粉酶（美国 sigma 公司），福林酚（FC）试剂、亚硝酸钠、九水合硝酸铝、氢氧化钠、95%乙醇、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼（DPPH）、2,2'-偶氮二异丁基脒二盐酸（ABAP）、荧光素钠、对硝基苯基-α-D-吡喃半乳糖苷（PNPG）均为分析纯，试验用水为实验室自制超纯水。

1.2 仪器与设备

电子天平（沈阳龙腾电子有限公司），T6 紫外-可见分光光度计（北京普析通用仪器有限公司），XS205 分析天平（梅特勒-托利多仪器有限公司），RIOS 8 超纯水系统（美国 Millipore 公司），移液器（美国 Thermo Fisher 公司），TD5A-WS 低速离心机（湖南湘仪实验室仪器开发有限公司），HH-S4 恒温水浴锅（上海况胜实业发展有限公司），N1100 旋转蒸发仪（上海艾朗仪器有限公司），Tecan Spark 多功能酶标仪（上海帝肯贸易有限公司），BCD-213D11D 双门冰箱（广东容声电器股份有限公司），MJ-系列霉菌培养箱（上海一恒科技有限公司）。

1.3 方法

1.3.1 六堡茶毛茶及其水浸出物的制备

参考黄敏周等（2020）六堡茶毛茶制作工艺，鲜叶在萎凋棚下晾晒 4 h，再经滚筒杀青、揉捻后以提香机 70℃烘至茶样足干，即得六堡茶毛茶。毛茶进一步粉碎后密封置于-20 ℃保存备用。

按 GB/T 8305—2013（中华人民共和国国家标准化管理委员会，2013）方法对毛茶水浸出物进行提取。所得提取液分装后置于-20 ℃待用。

1.3.2 六堡茶毛茶水浸出物含量的测定

按 GB/ T 8305—2013 方法对六堡茶毛茶水浸出物含量进行测定。茶叶中水浸出物含量以干态质量分数（%）表示。

1.3.3 六堡茶毛茶水浸出物浸膏中总多酚含量测定

参考 GB/T 8313—2018（中华人民共和国国家标准化管理委员会，2018）中福林-酚法并稍作改进。取毛茶水浸出物提取液 0.2 mL 进行测定，加水补足至 6 mL，随后分别加入 FC 试剂 0.5 mL，混匀，10 min 后加入 1.5 mL 20% Na_2CO_3 液溶，充分混合后加水定容至 25 mL，30 ℃避光反应 30 min。以水为空白对照，在 760 nm 波长下测定吸光值 A。以没食子酸为标准品绘制标准曲线。水浸出物浸膏中总多酚含量以干态质量分数（%）表示，按式（1）计算：

总多酚含量（%）= 水浸出物提取液中总多 酚（g）/ 水浸出物浸膏质量（g）×100 （1）

1.3.4 六堡茶毛茶水浸出物浸膏中总黄酮含量测定

参考罗磊等（2016）的硝酸铝比色法并稍作改进。取毛茶水浸出物提取液 1.0 mL 进行测定，用 50%乙醇补足至 10.0 mL。加入 5%的亚硝酸钠溶液 1.0 mL，混匀，10 min 后再加入 17.6%的九水硝酸铝溶液 1.0 mL，摇匀，放置 10 min，加入 4 %的氢氧化钠溶液 10.0 mL，用 50%乙醇定容至刻度，摇匀，放置 30 min，同时做试剂空白，于 510 nm 波长处测定吸光度值 *A*。以芦丁为标准品绘制标准曲线。水浸出物浸膏中总黄酮含量以干态质量分数（%）表示，按式（2）计算：

$$总黄酮含量（\%）= 水浸出物提取液中总黄酮质量（g）/ 水浸出物浸膏质量（g）\times 100 \quad （2）$$

1.3.5 六堡茶毛茶水浸出物浸膏中茶多糖含量测定

参照 GB/T 40632—2021（中华人民共和国国家标准化管理委员会，2021）中的苯酚-浓硫酸比色法进行茶多糖含量测定。

1.3.6 体外抗氧化、降血糖活性测定

1.3.6.1 DPPH 自由基清除能力的测定

参考（李明杨等，2022）方法并稍作改进。将毛茶水浸出物稀释成合适的系列浓度的待测样品。分别精密量取 1.0 mL 待测样品与 2.0 mL95%乙醇、1.0 mL 0.12 mg•mL^{-1} DPPH 溶液混合摇匀，于室温下避光静置反应 20 min，作为样品组。以 4.0 mL95%乙醇为调零组，以相同体积的 95%乙醇代替 DPPH 溶液为样品本底组，空白组为 3.0 mL 95%乙醇和 1.0 mL DPPH 溶液，在 517 nm 波长下测定吸光度。以 VC 为阳性对照物（浓度梯度为 5、10、15、20、25 μg•mL^{-1}），清除率按式（3）计算：

$$清除率（\%）= [1 - (T - T_0) / C] \times 100 \quad （3）$$

式中：*T*--样品组的吸光度，T_0--样品本底组的吸光度，*C*--空白组的吸光度。

毛茶水浸出物对 DPPH 自由基的清除能力以半数清除浓度 IC_{50} 表示，IC_{50} 值越小说明清除自由基的能力越强（吕平和潘思轶，2020）。

1.3.6.2 氧自由基吸收能力（oxygen radical absorbance capacity，ORAC）的测定

参照(Wen et al., 2016)方法测定水浸出物样品的 ORAC 值，并表示为每克水浸出物浸膏（干重）的 Trolox 当量（μM Trolox equivalents (TE)•g^{-1} water extracts DW）。ORAC 值越大，说明毛茶水浸出物的氧自由基吸收能力越强，其抗氧化活性越高。

1.3.6.3 *α*-葡萄糖苷酶抑制活性的测定

按(Pan et al., 2020)方法测定毛茶水浸出物对*α*-葡萄糖苷酶抑制活性。抑制 50%的酶活所需要的样品质量浓度用 IC_{50} 值表示（μg•mL^{-1}），IC_{50} 值越小说明对α-葡萄糖苷酶的抑制能力越强。

1.3.6.4 α-淀粉酶抑制活性的测定

参考文献（柳梅等，2017）DNS 法并稍作改进，将不同浓度的样品溶液(1.0 mL)和 1 U•mL^{-1} α-淀粉酶(1.0 mL)混合，在 37℃下孵育 10 min，随后加入 1.0 mL1 %可溶性淀粉溶液(已煮沸糊化），在 37 ℃下反应 15 min，取出，经高温灭酶后分别加入 1.5 mL DNS，继续煮沸 8 min。将混合体系定容至 25 mL，以水代替α-淀粉酶溶液、1%可溶性淀粉溶液为较零管，于 540 nm 波长处测定其吸光度 A_1。以无样品的反应体系为空白对照，测定其吸光度 A_0；阿

卡波糖为阳性对照。试剂背景以水校零，以等体积水取代 DNS，测定其吸光度 A_2。按式（4）计算抑制率：

$$\alpha\text{-淀粉酶抑制率（\%）} = [1-(A_1-A_2)/(A_0-A_2)]\times 100\% \quad （4）$$

抑制 50%的酶活所需要的样品质量浓度用 IC_{50} 值表示（μg•mL^{-1}），IC_{50} 值越小说明对 α-淀粉酶的抑制能力越强。

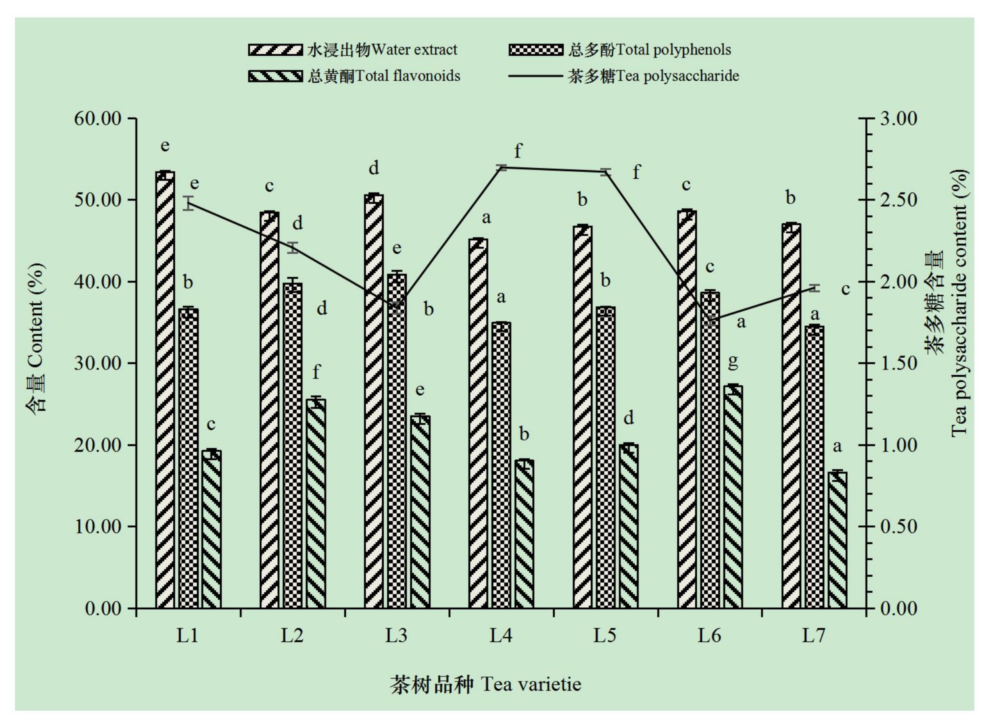
1.3.7 数据处理

每个试验设置 3 个平行，采用 Excel 2019 软件进行数据处理，结果用平均值±标准差（$\bar{x}$ ± SD）表示。样品间各指标的差异采用 SPSS 19.0 软件，利用单因素方差分析（One-Way ANOVA）和 Duncan 多重范围检验，P＜0.05 表示差异显著，P>0.05 表示无显著差异。体外活性试验中的 IC_{50} 值采用 SPSS 19.0 软件中的 Probit 进行计算。采用 Pearson 对各项指标间的相关性进行分析。

2 结果与分析

2.1 不同茶树品种制备的六堡茶毛茶水浸出物及活性成分含量分析

由图 1 可知，7 个不同品种毛茶水浸出物含量变化范围为（45.18%±0.11%）~（53.42±0.14 %），其中黄金茶的含量最高（53.42%± 0.14%），其次是桂红 4 号，福云 6 号的最低。水浸出物含量不仅都高于国家标准（全国茶叶标准化技术委员会，2016）对中小叶种绿茶水浸出物的规定（≥36.0%），而且大于 45%，说明这些茶树品种内容物丰富，具有较高的耐泡性（纪鹏彬等，2021），满足六堡茶耐冲泡特性所需的物质基础。7 个不同品种毛茶水浸出物的总多酚含量在（34.50%±0.22%）~（40.87%±1.09 %）之间，其中桂红 4 号的总多酚含量最高（40.87%±1.09 %），比桂青种高出 6.37%，两者总多酚含量存在显著性差异（P<0.05），福云 6 号、桂青种的总多酚含量均显著低于其它品种（P<0.05），表明不同茶树品种制备的毛茶水浸出物中总多酚含量存在差异，这与苏秋芹等（2018）的研究结果基本一致。7 个不同品种毛茶水浸出物的总黄酮含量变化范围为（16.63%±0.32%）~（27.17%± 0.26 %），含量最高的品种为云南大叶种（27.17%± 0.26 %），其次为六堡群体种、桂红 4 号，含量最低的品种为桂青种（P<0.05）。7 个不同品种毛茶水浸出物的茶多糖含量分布范围为（1.76%±0.04%）~（2.70%± 0.02 %），平均茶多糖含量为（2.23%±0.03 %），其中福云 6 号的茶多糖含量最高，是云南大叶种的 1.5 倍，其余品种毛茶水浸出物的茶多糖含量差异也较大（P<0.05）。以上结果表明不同茶树品种制备的毛茶水浸出物含量及浸膏中活性成分的含量存在显著差异（P<0.05）。产生显著性差异的原因可能与茶树品种之间遗传基因的差异（刘淑文等，2022）有关。



注：不同字母表示不同茶树品种制备的毛茶水浸出物及其浸膏中活性成分的含量存在显著差异（P<0.05），相同字母表示无显著差异（P>0.05）。下同。

Note: Different letters indicate that there is a significant difference in the content of active components in the water extract and extract of raw tea prepared by different tea varieties (P<0.05), and the same letter indicates no significant difference (P>0.05). The same below.

图 1 不同茶树品种制备的毛茶水浸出物浸膏中活性成分含量

Fig. 1 Content of active components in raw tea water extract prepared from different tea varieties

2.2 不同茶树品种制备的六堡茶毛茶水浸出物抗氧化活性比较

不同茶树品种制备的毛茶水浸出物的 DPPH 自由基清除能力及 ORAC 值结果见图 2~图 3。

由图 2 可知，不同品种毛茶水浸出物对 DPPH 自由基的清除能力（IC_{50}）存在显著性差异（P<0.05），其中对 DPPH 自由基的清除能力最强的品种为六堡群体种[（16.73±0.02）μg•mL^{-1}]，其次为桂红 4 号[（17.20±0.25）μg•mL^{-1}]、宛田种[（19.51±0.19）μg•mL^{-1}]。由图 3 可知，不同品种的 ORAC 值存在显著差异（P<0.05）。7 个品种毛茶水浸出物的 ORAC 值在[（5 387.41±39.71）μM TE•g^{-1} water extracts DW ~（6 762.63±50.81）μM TE•g^{-1} water extracts DW]之间，其中桂红 4 号、宛田种、六堡群体种的 ORAC 值相对较高。

ORAC 法与 DPPH 自由基清除法测定的 7 个品种毛茶水浸出物的抗氧化活性强弱顺序不完全一致，这一结果与周金伟等（2014）的研究结果相似，产生这一结果的原因可能与这两种评价方法的自由基和作用机理不同有关。DPPH 在溶液中是以自由基形态和正离子态($DPPH^+$)存在的，因此存在单电子转移和氢转移两种作用机制（李铉军等，2011）。ORAC 法是一种经典的氢原子转移反应过程终止自由基链式反应，具有较高的特异性（续洁琨等，2006）。不同品种毛茶水浸出物中含有的大分子抗氧化剂含量可能不同，而大分子抗氧化剂由于空间位阻不能与 DPPH 自由基反应（续洁琨等，2006），从而导致抗氧化效果有偏差。虽然所测样品的 ORAC 法与 DPPH 自由基清除法测定结果存在差异，但桂红 4 号、宛田种、六堡群体种水浸出物的 ORAC 值和 DPPH 自由基清除能力均较高，说明这三个品种的抗氧化活性优于其余品种。

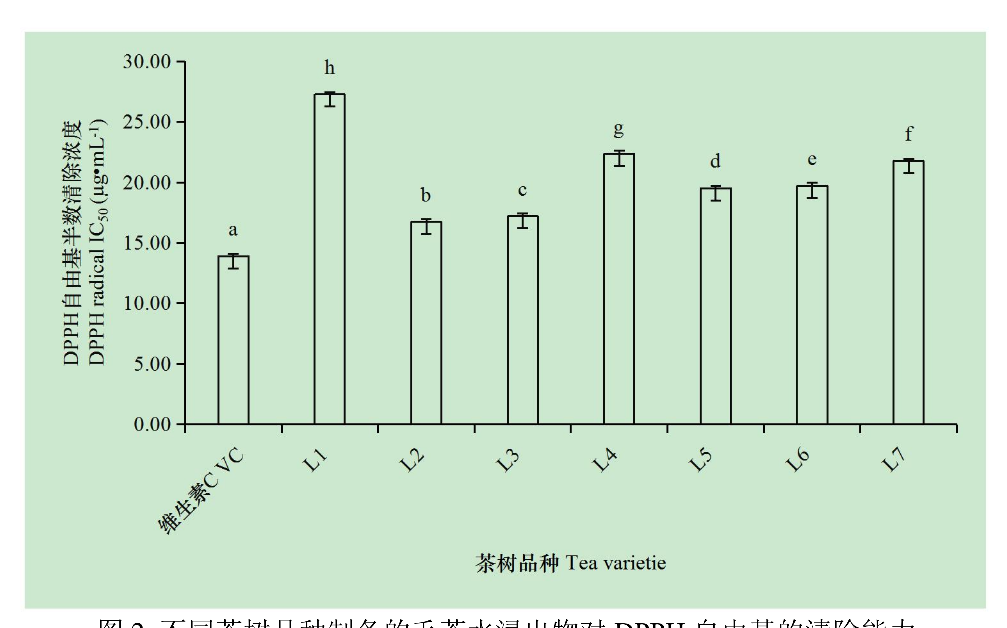


图 2 不同茶树品种制备的毛茶水浸出物对 DPPH 自由基的清除能力

Fig. 2 DPPH free radical scavenging ability of raw tea water extracts prepared from different tea varieties

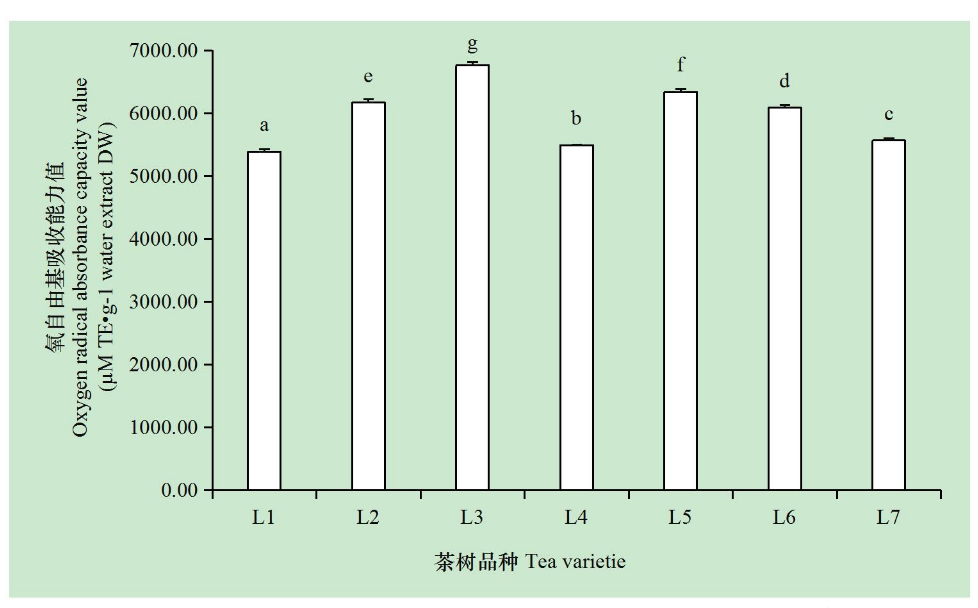


图 3 不同茶树品种制备的毛茶水浸出物的氧自由基吸收能力值

Fig. 3 ORAC values of raw tea water extracts prepared from different tea varieties

2.3 不同茶树品种制备的六堡茶毛茶水浸出物体外降血糖活性比较

不同茶树品种制备的六堡茶毛茶水浸出物对α -葡萄糖苷酶、α -淀粉酶的抑制作用见图 4~图 5。

由图 4 可知，7 个品种毛茶水浸出物对α -葡萄糖苷酶的抑制作用均显著强于阳性对照阿卡波糖 IC_{50}=[（606.21±4.30）μg•mL^{-1}]，说明这些品种均可作为α -葡萄糖苷酶的天然抑制剂，其中六堡群体种、桂青种、桂红 4 号水浸出物对α -葡萄糖苷酶的抑制效果更佳，IC_{50} 值分别为[（9.66±0.11）μg•mL^{-1}]、[（10.87±0.07）μg•mL^{-1}]、[（11.06±0.11）μg•mL^{-1}]。福云 6 号、宛田种对α -葡萄糖苷酶的抑制作用都显著低于六堡群体种（P<0.05），其余品种对α -葡萄糖苷酶的抑制作用差异不大。由图 5 可知，部分品种对α -淀粉酶的抑制作用有显著差异（P<0.05）。7 个品种毛茶水浸出物对α -淀粉酶的半数抑制浓度（IC_{50}）在[（89.13±1.07）

μg•mL^{-1}～（160.15±1.88）μg•mL^{-1}]之间，均具有显著的α -淀粉酶抑制效果，其中六堡群体种、桂红 4 号、桂青种比其它品种有更好的抑制α -淀粉酶活效果。两种体外降血糖评价方法的结果均显示六堡群体种、桂红 4 号、桂青种具有更好的体外降血糖活性。

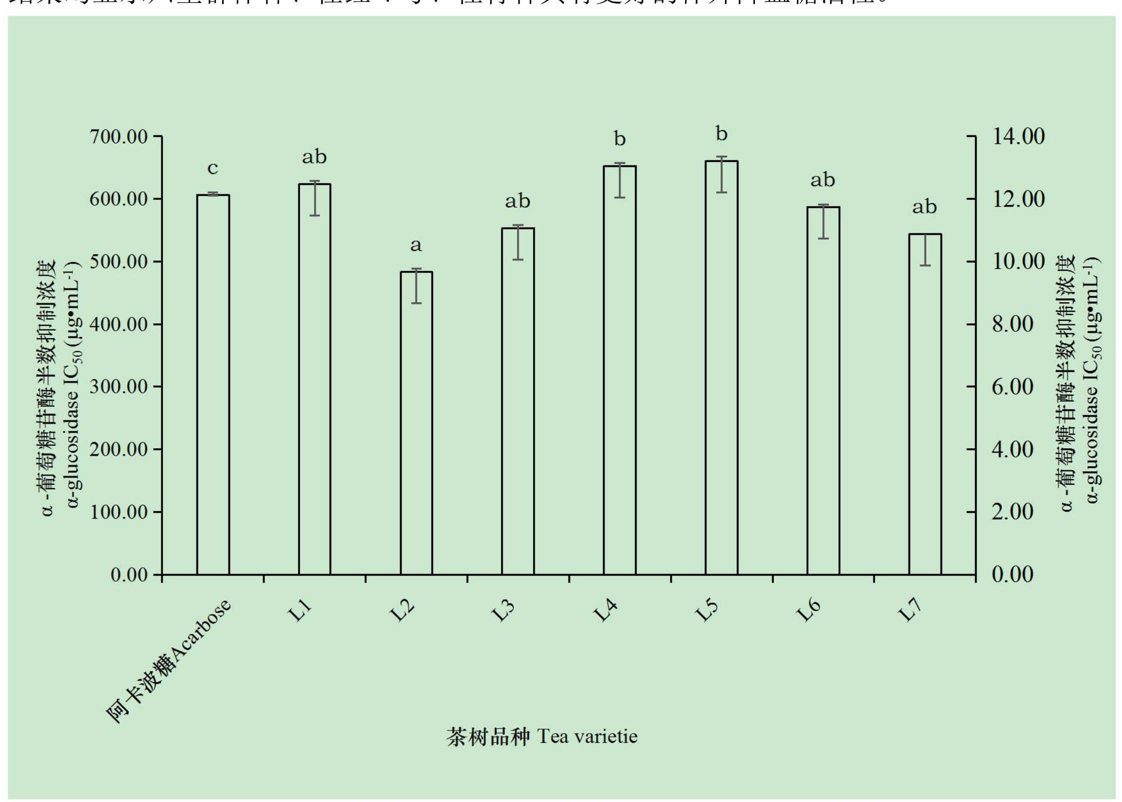


图 4 不同茶树品种制备的毛茶水浸出物对α-葡萄糖苷酶的抑制作用

Fig. 4 Inhibition of α-glucosidase by raw tea water extracts prepared from different tea varieties

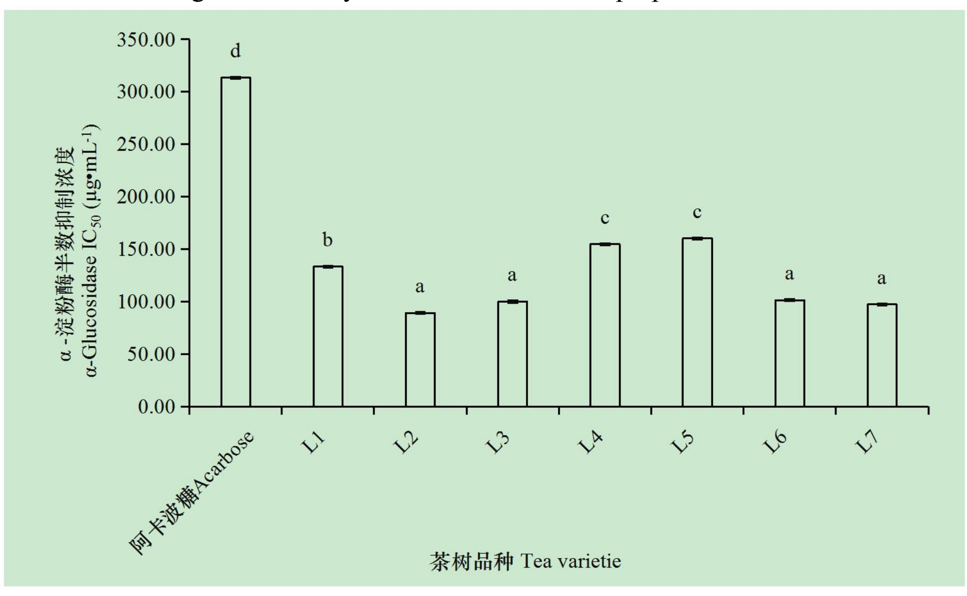


图 5 不同茶树品种制备的毛茶水浸出物对α-淀粉酶的抑制作用

Fig. 5 Inhibition of α-amylase by raw tea water extracts prepared from different tea varieties

2.4 不同茶树品种制备的六堡茶毛茶水浸出物活性成分与体外抗氧化、降血糖活性的相关性分析

由于样品活性越强，其 IC_{50} 值则越小，因此进行活性成分与抗氧化、降血糖活性的相关性分析时用 $1/IC_{50}$ 表示样品活性的强弱。由相关性分析（表 1）可知，总多酚含量分别与

DPPH 自由基清除作用和 ORAC 值呈显著的正相关，相关系数分别为 0.751 和 0.817，表明总多酚含量与体外抗氧化活性有显著的相关性。总多酚含量与总黄酮含量呈显著正相关（$P<0.05$），这是因为黄酮是多酚的组成成分之一。总多酚含量与α-葡萄糖苷酶、α-淀粉酶抑制作用有较好的正相关关系，总黄酮含量分别与α-葡萄糖苷酶、α-淀粉酶抑制作用有中等强度、显著正相关，表明体外降血糖活性与总多酚、总黄酮相关。DPPH 自由基清除作用与 ORAC 值具有显著正相关，表明这两种抗氧化活性的评价方法可以相互佐证。同理，α -葡萄糖苷酶抑制作用与α -淀粉酶抑制作用相关系数为 0.929（$P<0.01$），表明这两种体外降血糖的评价方法可以互为辅助参考。而茶多糖含量与体外抗氧化、降血糖活性均没有正相关性，这与余启明等（2021）和宋林珍等（2018）的研究结果不同，可能是不同品种之间的茶多糖的分子量、化学成分、结构和立体构象不同从而导致体外降血糖活性不同（宋林珍等，2018），具体的影响因素有待进一步研究。

表 1 不同品种毛茶水浸出物的 $1/IC_{50}$ 值、ORAC 值与各项指标的相关性分析

Table 1 Correlation analysis of $1/IC_{50}$ value, ORAC value and various indexes of raw tea water extracts from different varieties

指标 Index	总多酚 Total polyphenols	总黄酮 Total flavonoids	茶多糖 Tea polysaccharide	DPPH·清除能力 DPPH· scavenging ability	ORAC 值 ORAC value	α -葡萄糖苷酶抑制作用 α - glucosidase inhibition	α -淀粉酶抑制作用 α - amylase inhibition
总多酚 Total polyphenols	1	0.850*	-0.495	0.751*	0.817*	0.501	0.521
总黄酮 Total flavonoids		1	-0.537	0.660	0.614	0.449	0.757*
茶多糖 Tea polysaccharide			1	-0.419	-0.394	-0.586	-0.839
DPPH· 清除能力 DPPH· scavenging ability				1	0.855*	0.622	0.564
ORAC 值 ORAC value					1	0.285	0.312
α -葡萄糖苷酶抑制作用 α - glucosidase inhibition						1	0.929**
α -淀粉酶抑制作用 α- amylase inhibition							1

注：*在 0.05 级别（双尾），相关性显著，**在 0.01 级别（双尾），相关性显著。

Note: * Significant correlation at 0.05 (two-tailed), * * Significant correlation at 0.01 (two-tailed).

3 结论与讨论

7 个品种毛茶水浸出物及其浸膏中总多酚、总黄酮、茶多糖的含量之间存在显著差异（$P<0.05$），体外抗氧化、降血糖活性也存在差异。

两种抗氧化评价方法结果均表明六堡群体种、桂红 4 号、宛田种毛茶水浸出物的抗氧化活性较好，同时总多酚、总黄酮含量也较高。相关性分析表明总多酚含量与抗氧化活性有显著的正相关，总黄酮含量与抗氧化活性也有较好的正相关，因此总多酚、总黄酮对毛茶抗氧化活性的贡献较大。总多酚含量与α-葡萄糖苷酶、α-淀粉酶抑制作用有较好的正相关，总黄酮含量分别与α-葡萄糖苷酶、α-淀粉酶抑制作用有中等强度、显著正相关，表明总多酚和总黄酮均具有降血糖活性，同时两者可能还具有协同作用。两种降血糖评价方法结果均表明六堡群体种、桂红 4 号、桂青种的毛茶水浸出物比其余品种的降血糖活性更好，其中六堡群体种、桂红 4 号毛茶水浸出物的总多酚、总黄酮含量均较高，而桂青种的却低于其余品种。可能与以下两个因素有关：潘福璐等（2020）研究表明茶叶中多酚组分 ECG 分别与 EGCG、GCG 两两组合对抑制α-葡萄糖苷酶活性存在协同作用，且这两种组合及组合内不同含量配比对α-葡萄糖苷酶活性抑制作用存在差异，因此不同品种毛茶水浸出物中 ECG、EGCG、GCG 的含量组成差异对降血糖活性产生影响；茶多糖的单糖组成、分子量、支链结构、立体构象是影响其降血糖活性的重要因素（杨玉洁等，2021），如糖醛酸能明显影响多糖的活性，而茶树品种间的中性糖、糖醛酸含量存在极显著差异（刘思思等，2009），因此不同品种毛茶水浸出物的茶多糖的单糖组成、分子量、支链结构和有效结构含量等方面可能不同，从而影响其降血糖活性。桂青种的体外降血糖活性的物质基础及其作用机制有待进一步研究。

综上所述，六堡群体种、桂红 4 号、宛田种、桂青种的毛茶品质均较好，其中六堡群体种、桂红 4 号同时具有开发抗氧化、降血糖功能食品的前景，宛田种、桂青种分别具有开发抗氧化、降血糖功能食品的潜力；总多酚、总黄酮对毛茶体外抗氧化、降血糖活性均有较大贡献；总多酚具有一定的热稳定性，但在高湿高温及强光条件下含量迅速下降(沈生荣，1993)。为得到抗氧化、降血糖活性更好的六堡茶产品，在毛茶进一步的加工利用过程应着重注意对这类成分的保护，不宜长时间使用高温、强光直射的加工方式。储存时应密封避光置于干燥阴凉通风处或冷藏。总黄酮是总多酚的组成成分之一，因此其保护方法与总多酚的一致。另外，为保证同一品种茶树品质的稳定性，在对茶树进行异地引种栽培时，宜选择地域、土壤、气候、海拔高度等条件与原产地相近的地理环境（刘淑文等，2022），同时还需采用统一的茶叶采摘标准。本研究可为开发抗氧化、降血糖活性更好的六堡茶产品在毛茶原料筛选和加工方式选择方面提供科学依据。

参考文献

CHEN XQ, YE Y, CHENG H, et al., 2008. Studies on physical and chemical properties of Liupao tea[J]. Chin Agric Sci Bull, 24(7): 77-80. [陈小强，叶阳，成浩，等，2008．六堡茶的理化分析研究[J]．中国农学通报，24(7)：77-80.]

GONG YZ, XU YJ, LIU HW, et al., 2012. Progress of synergistic antioxidant effects of natural antioxidants[J]. Food Sci Technol, 37(6): 264-267; 272.[龚艳振，徐亚健，刘华巍，等．2012．天然抗氧化剂复配研究进展[J]．食品科技，37(6)：264-267；272.]

GONG SJ, TENG CQ, LIANG DY, et al., 2020. In vitro study on hypolipidemic effects of theabrownins in Liupao tea[J]. J Tea Sci, 40(4): 536-543.[龚受基，滕翠琴，梁东姨，等，2020.六堡茶茶褐素体外降脂功效研究[J]．茶叶科学，40(4)：536-543.]

HUANG MZ, TAN SB, WANG XY, 2020. Different drying processes on the sensory quality of primary tea of Liubao tea [J]. J Guangxi Agric, 35(5): 43-45, 25. [黄敏周，谭少波，王小云，2020．不同干燥工艺对六堡茶毛茶感官品质的影响[J]．广西农学报，35(5)：43-45，25.]
JI PB, LI XS, YAN F, et al., 2021. Research progress on tea suitability[J]. Food Res Devel, 42(13): 219-224 [纪鹏彬，李新生，燕飞，等，2021．茶叶适制性研究进展[J]．食品研究与开发，42(13): 219-224.]
KONG N, 2020. Research progress in chemical constituents of Liubao tea[J]. Popular Sci & Technol, 22(4): 35-37.[孔妮，2020．六堡茶化学成分的研究进展[J]．大众科技，22(4)：35-37.]
LI M, PANG YL, YANG C, 2021. Analysis of chemical constituents of Liubao tea in different processes[J]. J Anhui Agric Sci, 49(2): 193-195, 200. [黎敏，庞月兰，杨春，等， 2021．不同工艺六堡茶化学成分分析[J]．安徽农业科学，49(2)：193-195，200.]
LI MY, LIU SG, LU MJ, et al., 2022. Comparison of antioxidant activity in vitro of antioxidants used in heat-processed meat products and their effects on oxidation[J]. Food Sci, 43(1): 67-75.[李明杨，刘帅光，卢梦娇，等，2022．不同抗氧化剂体外抗氧化活性及其对肉品氧化稳定性的影响[J]．食品科学，43(1)：67-75.]
LI QJ, 2019-9-22. Liupao tea industry science and technology innovation and cooperation summit forum held in Yong[N]. Wuzhou Daily. [李欣鞠，2019-9-22．六堡茶产业科技创新与合作高峰论坛在邕举行[N]．梧州日报.]
LIU SW, YOU JP, LI YB, et al., 2022. Analysis of factors affecting the content of tea polyphenols in tea[J]. Fujian Tea, 44(2): 18-21.[刘淑文，游静萍，李云冰，等，2022．影响茶叶中茶多酚含量的因素分析[J]．福建茶叶，44(2)：18-21.]
LIN XS, HUANG L, XIA N, et al., 2019. Analysis, identification and fingerprint of phenols in Liupao tea[J]. Light Ind Sci Technol, 35(6): 8-11, 18. [林小珊，黄丽，夏宁，等，2019．六堡茶酚类物质的分析鉴定及指纹图谱研究[J]．轻工科技，35(6)：8-11，18.]
LIN GX, LIU YF, LAN Y, et al., 2012. Choice of varieties、seedling breeding and raw tea bases construction suitable for making six fort tea[J]. Popular Sci & Techno, 14(5): 140-142.[林国轩，刘玉芳，兰燕，等，2012．适制六堡茶品种的选择、苗木繁育及原料茶基地建设[J]．大众科技，14(5)：140-142.]
LIU XL, LI Y, JIANG YX, et al., 2012. Analysis on feature composition of Guangxi Liupao tea[J]. J Beijing Technol Bus Univer(Nat Sci Ed), 30(1): 46-50. [刘小玲，李颖，姜元欣，等，2012．广西六堡茶主要特征成分分析[J]．北京工商大学学报(自然科学版)，30(1)：46-50.]
LUO L, ZHANG BJ, ZHU WX, et al., 2016. Ultrasonic-assisted extraction and antioxidation of flavonoids from *Lonicera japonica* Thunb. leaves: process optimization by response surface methodology and antioxidant activity evaluation[J]. Food Sci, 37(6): 13-19. [罗磊，张冰洁，朱文学，等，2016．响应面试验优化超声辅助提取金银花叶黄酮工艺及其抗氧化活性[J]．食品科学，37(6)：13-19.]
LV P, PAN SY, 2020. Synergistic antioxidant effects of total flavonoids from tangerine peel and Pùer tea[J]. Food Res Devel, 41(3): 59-64.[吕平，潘思轶，2020．陈皮与普洱茶总黄酮的协同抗氧化作用研究[J]．．食品研究与开发，41(3)：59-64.]
LIU M, REN X, YAO YJ, et al., 2017. Antioxidant and in vitro hypoglycemic activities of polyphenol in sea buckthorn leaves[J]. Nat Prod Res Develop, 29(6): 1013-1019. [柳梅，任璇，姚玉军，等，2017. 沙棘叶多酚提取物抗氧化及体外降血糖活性研究[J]．天然产物研究与开发，29(6)：1013-1019.]
LI XJ, CUI SY, 2011. DPPH radical scavenging mechanism of ascorbic acid[J]. Food Sci, 2011,

32(1): 86-90.[李铉军，崔胜云，2011．抗坏血酸清除 DPPH 自由基的作用机理[J]．食品科学，32(1)：86-90.]
LIU SS, 2009. Study on composition, bioactivity of tea polysaccharides from 140 varieties and structure of tea polysaccharides with higher bioactivty[D]. Huazhong Agr Univ.[刘思思，2009．茶树品种间多糖组成、活性差异及高活性茶多糖的结构分析[D]．华中农业大学.]
MA WJ, MA SC, LIU CM, et al., 2020. Research progress on chemical composition and biological activity of Liupao tea[J]. J Tea Sci, 40(3): 289-304.[马婉君，马士成，刘春梅，等，2020．六堡茶的化学成分及生物活性研究进展[J]．茶叶科学，40(3)：289-304.]

PAN ZH, NING DS, FU YX, et al., 2020. Preparative isolation of piceatannol derivatives from passion fruit (*Passiflora edulis*) seeds by high-speed countercurrent chromatography combined with high-performance liquid chromatography and screening activities[J]. J Agr Food Chem, 68(6): 1555-1562.
PAN FL, JI YH, YU GH, et al., 2020. Study on binding kinetics profiles of tea polyphenols - α - glucosidase interaction[J], Chin J Chin Materia Medica , 45(18): 4472-4481.[潘福璐，冀艳华，于国华，等，2020．茶多酚与α-葡萄糖苷酶结合动力学特征研究[J]．中国中药杂志，45(18)：4472-4481.]
Standardization Administration of the People's Republic of China, 2013. Tea - Determination of water extract[S]. Beijing: China Stand Press: 1-4. [中华人民共和国国家标准化管理委员会，2013．茶 水浸出物测定[S]．北京：中国标准出版社：1-4.]
Standardization Administration of the People's Republic of China, 2016. Dark tea - Part 4: Liupao tea[S]. Beijing: China Stand Press: 1-6. [中华人民共和国国家标准化管理委员会，2016．黑茶第四部分：六堡茶[S]．北京：中国标准出版社：1-6.]
Standardization Administration of the people's Republic of China, 2018. Determination of total polyphenols and catechins content in tea[S]. Beijing: China Stand Press: 1-6. [中华人民共和国国家标准化管理委员会，2018．茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法[S]．北京：中国标准出版社：1-6.]
Standardization Administration of the People's Republic of China, 2009. Determination for polysaccharides in bamboo leaves[S]. Beijing: China Stand Press, 1-2. [中华人民共和国国家标准化管理委员会，2021．竹叶中多糖的检测方法[S]．北京：中国标准出版社：1-2.]
SONG LZ, ZHU LY, GAO YS, et al., 2018. Structural characteristics and hypoglycemic activity of polysaccharides from green tea leaves[J]. Food Sci, 39(19): 162-168.[宋林珍，朱丽云，高永生，等，2018．茶多糖的结构特征与降血糖活性[J]．食品科学，39(19)：162-168.]
SHEN SR, 1993. Stability of tea polyphenols[J]. J Tea, 19(2):27-29.[沈生荣，1993．茶多酚的稳定性[J]．茶叶，19(2)：27-29.]
WEN LR, ZHENG GQ, YOU LJ, et al., 2016. Phytochemical profiles and cellular antioxidant activity of *Malus doumeri* (bois) chevalier on 2, 2′-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (ABAP)-induced oxidative stress[J]. J Funct Foods, 25: 242-256.
WEN LX, ZHANG F, HE MZ, et al., 2021. Quality characteristics of stale flavor Liupao teas and establishment for evaluation method of aroma quality [J]. Sci Technol Food Ind, 42(2):230-236. [温立香，张芬，何梅珍，等，2021．陈香六堡茶品质特征及香气质量评价方法建立[J]．食品工业科技，42(2)：230-236.]
XU JK, YAO XS, SU YB, 2006. Oxygen radical absorbance capacity assay and its application[J]. Chin Pharmacol Bull, 22(8): 1015-1021.[续洁琨，姚新生，栗原博，2006．抗氧化能力指数(ORAC)测定原理及应用[J]．中国药理学通报，22(8)：1015-1021.]

YE Y, WEI BY, TENG JW, et al., 2019. Effect of Liupao tea on levels of short chain fatty acids in intestinal Ttract of rats with hyperlipidemia[J]. J Tea Sci, 39(2): 211-219.[叶颖，韦保耀，滕建文，等，2019. 六堡茶对高脂饮食大鼠肠道短链脂肪酸含量的影响[J]. 茶叶科学，39(2)：211-219.]
YANG YJ, LIU JY, TAN Y, et al., 2021. Progress in understanding the structure-activity relationship and hypoglycemic mechanism of polysaccharides[J], Food Sci, 42(23): 355-363.[杨玉洁，刘静宜，谭艳，等，2021．多糖降血糖活性构效关系及作用机制研究进展[J]．食品科学，42(23)：355-363.]
ZHANG JW, HOU C, DU YG, et al., 2019. Effect of fermentation on chemical compositions of Liupao tea using high-resolution mass spectrometry combined with principal component analysis [J]. Food Sci Technol, 44(12): 328-334. [张均伟，侯粲，杜昱光，等，2019．基于高分辨质谱结合主成分分析技术评价发酵过程对六堡茶关键品质成分的影响[J]．食品科技，44(12)：328-334.]
ZHOU WQ, NONG YF, SU SM, et al., 2013. On the relationship between the quality of Liupao tea and tea plants in Liupao population species[J]. Sino- foreign Ind, 6: 34-35. [周伟勤，浓艳芳，苏淑梅，等，2013．论六堡茶品质与六堡茶群体种的关系[J]．中外食品工业，6：34-35.]
ZHOU JW, CHEN X, YI YJ, et al., 2014. Comparative analysis on antioxidant capacities of different types of fermented teas in vitro[J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 14(8)：262-269. [周金伟，陈雪，易有金，等，2014．不同类型茶叶体外抗氧化能力的比较分析[J]．中国食品学报，14(8)：262-269.]
ZHANG ZS, GUO Q, GAO YF, et al., 2017. Industrialization progress of natural antioxidants[J]. Food Res Devel, 38(7) : 206- 209.[张泽生，郭擎，高云峰，等，2017．天然抗氧化剂的产业化进展[J]．食品研究与开发，38(7)：206-209.]